

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 1 月 3 日 (03.01.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/000285 A1

(51) 国際特許分類: A61K 45/00, 31/724,
31/765, 47/48, A61P 1/00, 13/12, 43/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP02/06104

(22) 国際出願日: 2002 年 6 月 19 日 (19.06.2002)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2001-188843 2001 年 6 月 21 日 (21.06.2001) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科学技術
振興事業団 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY
CORPORATION) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市
本町四丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ): 辻 彰
(TSUJII, Akira) [JP/JP]; 〒920-0865 石川県 金沢
市長町一丁目 3 番 10 号 Ishikawa (JP). 五井 郁

巳 (TAMAI, Ikumi) [JP/JP]; 〒921-8117 石川県 金
沢市 緑が丘 9 番 24 号 Ishikawa (JP). 崔 吉道
(SAI, Yoshimichi) [JP/JP]; 〒921-8035 石川県 金沢市
泉が丘二丁目 9 番 17 号 Ishikawa (JP). 由井 伸彦
(YUI, Noubuhiko) [JP/JP]; 〒923-1225 石川県 能美郡
辰口町松が岡 4 丁目 103 番 Ishikawa (JP). 大谷 亨
(OYA, Toru) [JP/JP]; 〒920-2132 石川県 石川郡 鶴来
町明島町 108 番 1 号 Ishikawa (JP). 宮本 賢一
(MIYAMOTO, Ken-ichi) [JP/JP]; 〒770-0856 徳島県 徳
島市 中洲町 2 番 38 号 502 号室 Tokushima (JP).

(74) 代理人: 廣田 雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒107-0052
東京都 港区 赤坂二丁目 8 番 5 号 若林ビル 3 階 Tokyo
(JP).

(81) 指定国 (国内): AU, CA, US.

(84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: TISSUE-SPECIFIC TRANSPORTER INHIBITOR

(54) 発明の名称: 組織特異的トランスポーター阻害剤

(57) Abstract: It is intended to provide a tissue-specific transporter inhibitor which is not absorbed in the digestive tract and can prevent worsening in the QOL of a patient due to diet therapy; and remedies for tissue dysfunction diseases and remedies for chronic renal failure progress containing the above inhibitor as the active ingredient. The tissue-specific transporter inhibitor not absorbed in the digestive tract is prepared by introducing a dipeptide which is a ligand of oligopeptide transporter 1 into a supermolecular structure polyrotaxane which is expected as being excellent in the interaction of its structurally modified active residue with a transmembrane transporter.

(57) 要約:

患者の食事療法によるQOL低下を防ぐことができる、消化管において非吸収性の組織特異的トランスポーター阻害剤や、かかる阻害剤を有効成分とする組織機能不全疾患治療薬及び慢性腎不全進行抑制治療薬を提供するものである。構造的修飾した活性残基が膜貫通型トランスポーターとの相互作用に優れていると期待される超分子構造ポリロタキサンに、オリゴペプチドトランスポーター1のリガンドであるジペプチドを導入し、消化管において非吸収性の組織特異的トランスポーター阻害剤を作製する。

WO 03/000285 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

組織特異的トランスポーター阻害剤

5 技術分野

本発明は、組織特異的トランスポーターが認識するリガンド構造と、膜組織を透過できない高分子分子構造とをもつ組織特異的トランスポーター機能阻害剤、及びかかる組織特異的トランスポーター機能阻害剤を有効成分とする組織機能不全疾患治療薬又は慢性腎不全進行抑制治療薬等に関する。

背景技術

現在、透析患者は増加傾向にあり、将来、糖尿病から透析療法に移行する患者の数を合わせると莫大な数にのぼることが予想されており、透析療法にかかる医療費は1兆円を遙かに越えることが推定されている。これらのことから、腎疾患を発症させない予防医学及び腎不全を透析に至らせない保存期治療が重要とされている。慢性腎不全患者における腎障害の有効な治療法は確立しておらず、現在までのところ、低タンパク食事療法やACE阻害薬のような抗高血圧薬の投与が行われている(Am. J. Cardiol. 59, 66A-71A, 1987, Am. J. Kidney. 20, 443-57, 1992, BMJ 304, 216-20, 1992, Ann. Intern. Med. 124, 627-32, 1996)。上記低タンパク食療法は慢性腎不全の進行を抑制するための有効な手段とされ、現在広く実施されているが、食事制限は患者の quality of life (QOL) やコンプライアンスの問題を抱えているため、タンパク質の経口吸収を抑制する等の新しい治療戦略が求められている。最近、高脂血症治療の新しい戦略として、小腸に存在する胆汁酸トランスポーター

を阻害することによってコレステロールの生合成を抑制するということが報告され注目を集めている (J. Pharmacol. Exp. Ther. 293, 315-20, 2000)。これと同様に、タンパク質の消化管吸収を特異的な阻害剤によって抑制することが可能であると期待される。

- 5 本発明者らは、以前、摂取されたタンパク質が、消化管内でアミノ酸とオリゴペプチドにまで分解し、小腸から吸収されることや、かかる吸収が小腸上皮細胞刷子縁膜に存在する特異的なトランスポーターによって行われることを報告している (Pharm. Res. 13, 963-77, 1996)。上記分解されたアミノ酸は複数のトランスポーターによって輸送されるが、
- 10 オリゴペプチドは P E P T 1 等のオリゴペプチドトランスポーターによって輸送され、ジペプチド又はトリペプチド特異的に吸収される (J. Biol. Chem. 270, 6456-63, 1995)。小腸におけるタンパク質の消化産物の吸収は、アミノ酸よりもペプチドの方が高いことが知られている (Gastroenterology 113, 332-40, 1997)。以上のことから、P E P T
- 15 1 阻害剤は、食餌中のタンパク質の吸収を抑制することができ、食事療法によって Q O L が低下している患者にとって有用であると考えられる。
- 1 9 9 4 年以降、ウサギ、ヒト及びラットの小腸から P E P T 1 遺伝子がクローニングされ (J. Biol. Chem. 270, 6456-63, 1995, Nature 368, 563-6, 1994, J. Pharma. Exp. Ther. 275, 1631-7, 1995, Biochim. Biophys.
- 20 Acta, 1305, 34-8, 1996)、P E P T 1 を介した輸送研究が急速に発展してきた。上記ラット小腸由来の P E P T 1 遺伝子は本発明者らが初めてクローニングし (Biochim. Biophys. Acta, 1305, 34-8, 1996)、免疫組織化学的手法により小腸上皮細胞刷子縁膜側に局在していることを明らかにしている (FEBS Lett. 392, 25-9, 1996)。また、P E P T 1
- 25 は、 β -ラクタム系抗生物質などのペプチド類似構造を有する化合物のみならず (Pharm. Res. 13, 963-77, 1996)、分子内にペプチド結合を

持たない抗ウイルス薬バラシクロビル (valacyclovir) などの化合物も認識し、輸送することが報告されている (Biochem. Biophys. Res. Commun. 250, 246-51, 1998, J. Clin. Invest. 101, 2761-7, 1998, J. Biol. Chem. 273, 20-2, 1998)。以上のように P E P T 1 は幅広い基質認識性を示すが、その分子認識性については未だ解明されておらず、現在のところ、P E P T 1 の基質認識には部分的構造のみならず分子全体の認識が関与しているのではないかと考えられている。一方、腎臓からクローニングされた P E P T 2 (Biochim. Biophys. Acta, 1235, 461-6, 1995, Biochim. Biophys. Acta, 1280, 173-7, 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 284-9, 1996) は、腎臓の近位尿細管上皮細胞刷子縁膜側に局在しているが、P E P T 1 と類似した基質認識性を有しており、オリゴペプチドやペプチド様化合物の再吸収に働いている。また、寄与は小さいが上記 P E P T 1 は腎臓においても発現していることが知られている (Am. J. Physiol. 276, F658-65, 1999) が、P E P T 2 の小腸における発現は認められていない。

ヒトにおいて、 β -ラクタム系抗生物質であり、P E P T 1 の基質である cefadroxil (C D X) のバイオアベイラビリティ (B A) が、同様に P E P T 1 によって認識される β -ラクタム系抗生物質である cephalixin (C E X) の同時投与によって低下するということが報告されている (Eur. J. Clin. Pharmacol. 41, 179-83, 1991)。バイオアベイラビリティの指標としての A U C (Area Under the plasma concentration Curve) が C E X によって低下したメカニズムには C D X の小腸での吸収と腎臓での再吸収阻害の両方が含まれる。腎臓からの再吸収は、主にオリゴペプチドトランスポーター (P E P T 2) を介して行われ、両化合物とも P E P T 2 の基質になることが知られている (Biochim. Biophys. Acta, 1235, 461-6, 1995)。従って、C E X によ

って引き起こされたCDXのBAの低下は、PEPT1及びPEPT2を介したCDXの輸送をCEXが阻害したことによるものであることが説明できる。腎臓に存在するPEPT2の阻害が生体にどのような影響を及ぼすかは明らかにされていないが、慢性腎不全の食事療法という観点からはPEPT1を介した直接の吸収阻害に限定したほうが望ましいと5 考えられる。しかし、PEPT1及びPEPT2は、非常に類似した基質認識性を示すため、PEPT1を特異的に認識するような阻害剤の開発は困難であるとされていた。

腎不全による透析患者は増加傾向にあり、また糖尿病から透析療法に移行する患者数を合わせると膨大な数となり、それにかかる医療費は将来1兆円を超えることが推測される。このような状況下では、腎疾患を10 発症させない予防医学及び腎不全を透析に至らせない保存期治療が重要である。本発明の課題は、患者の食事療法によるQOL低下を防ぐことができる、消化管において非吸収性の組織特異的トランスポーター阻害剤や、かかる阻害剤を有効成分とする組織機能不全疾患治療薬及び慢性15 腎不全進行抑制治療薬を提供することにある。

本発明者らは上記課題を解決するためには、PEPT2への認識を回避することができる、消化管非吸収性PEPT1阻害剤の使用が有効であると考え、また、高分子化合物は、一般的に消化管から吸収されないことから、PEPT1認識性を有する高分子化合物を設計することにより、20 PEPT1を選択的に阻害することが可能になるのではないかと考えた。そこで、構造的修飾を施した活性残基が膜貫通型トランスポーターとの相互作用に優れていると期待される、超分子構造ポリロタキサン（PRX）に着目し、上記PEPT1のリガンドであるジペプチド（Val-Lys）を25 超分子構造PRXに導入した化合物を作製し、鋭意研究した結果、上記化合物によりタンパク質の吸収を抑制し、さらにタン

パク質摂取制限が必要となる慢性腎不全の進行を抑制することが可能であることを見い出し、本発明を完成するに至った。

発明の開示

- 5 すなわち本発明は、組織特異的トランスポーターが認識するリガンド構造と、膜組織を透過できない高分子分子構造とをもつことからなることを特徴とする組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 1）や、膜組織を透過できない高分子分子構造が、超分子構造であることを特徴とする請求項 1 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項
- 10 2）や、超分子構造が、多数の環状分子に線状分子が貫通し、該線状分子の両末端を嵩高い置換基でキャップしたロタキサン化合物であることを特徴とする請求項 2 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 3）や、環状分子が、シクロデキストリンであることを特徴とする請求項 3 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 4）
- 15 や、線状分子が、ポリエチレングリコールであることを特徴とする請求項 3 又は 4 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 5）や、嵩高い置換基が、N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニンであることを特徴とする請求項 3～5 のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 6）や、膜組織を透過できない
- 20 高分子分子構造が、 α -シクロデキストリン構造であることを特徴とする請求項 1 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 7）や、組織特異的トランスポーターが認識するリガンドが、有機アニオン性物質、有機カチオン性物質、又はペプチド性物質であることを特徴とする請求項 1～7 のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻
- 25 害剤（請求項 8）や、組織特異的トランスポーターが、小腸特異的トランスポーターであることを特徴とする請求項 1～8 のいずれか記載の組

組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 9）や、小腸特異的トランスポーターが、オリゴペプチドトランスポーター 1（PEPT1）であることを特徴とする請求項 9 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 10）や、オリゴペプチドトランスポーター 1（PEPT1）が認識するペプチド性物質が、バリルリジン（Val-Lys）であることを特徴とする請求項 10 記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤（請求項 11）に関する。

また本発明は、請求項 1～11 のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤を有効成分とすることを特徴とする組織機能不全疾患治療薬（請求項 12）や、請求項 1～11 のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤がタンパク質の吸収抑制剤であって、該抑制剤を有効成分とすることを特徴とする慢性腎不全進行抑制治療薬（請求項 13）に関する。

15 図面の簡単な説明

第 1 図は、ポリロタキサンの合成手順を示す図である。

第 2 図は、ペプチドトランスポーターに認識されるバリルリジン誘導体の合成手順を示す図である。

第 3 図は、本発明の組織特異的トランスポーター阻害剤である Val-Lys-ポリロタキサン結合体の合成手順を示す図である。

第 4 図は、HeLa-hPEPT1 細胞による [³H] Gly-Sar の取り込みに対する Val-Lys-ポリロタキサンの阻害効果を示す図である。

第 5 図は、HeLa-hPEPT1 細胞による [³H] Gly-Sar の取り込みに対する Val-Lys-ポリロタキサン又は Val-Lys- α -サイクロデキストリンの前投与に対する効果を示す図である。

第6図は、ラットへのセファキシレンの投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第7図は、ラットへのVal-Lys-ポリロタキサン（No. 2）の投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第8図は、ラットへのVal-Lys-ポリロタキサン（No. 7）の投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第9図は、ラットにCDXと、セファレキシン又はVal-Lys-ポリロタキサン（No. 2）とを投与したときの血漿中におけるセファドロキシルの濃度経時変化の結果を示す図である。

第10図は、ラットへのVal-Lys-ポリロタキサン（No. 7）の投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第11図は、ラットへのVal-Lys-ポリロタキサン（No. 7）の投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第12図は、ラットへのVal-Lys-ポリロタキサン（No. 7）の投与又は非投与後におけるセファドロキシルの血漿中濃度経時変化の結果を示す図である。

第13図は、ラットにCDXを瞬間静注し、それと同時にVal-Lys-ポリロタキサン（No. 7）を経口投与した時の血漿中におけるセファドロキシルの濃度経時変化の結果を示す図である。

25 発明を実施するための最良の形態

本発明の組織特異的トランスポーター機能阻害剤としては、組織特異

- 的トランスポーターが認識するリガンド構造と、膜組織を透過できない高分子分子構造とをもち、上記組織特異的トランスポーターの機能を阻害するものであればどのようなものでもよいが、生理的に安定した構造をとるものが好ましい。組織としては、小腸、腎臓、脳、肝臓、胎盤、
- 5 脾臓、肺、胃、卵巣、精巣、脾臓、大腸、骨格筋、気道、骨髄、前立腺、心臓、子宮、脊髄、副腎、甲状腺等の組織を例示することができ、また、かかる組織において特異的に発現するトランスポーターとしては、表1～3に示されるトランスポーターを具体的に挙げることができるがこれらに限定されるものではない。

(表 1)

種類	名称	アクセッション番号 (GenBank, NCBI)	文献 (Journal, vol, pages, year)	組織分布	輸送する基質
有機アニオントランスポート	OAT1	AB004559	J. Biol. Chem., 272, 18526-18529, 1997	腎、(脳)	β -ラクタム抗生物質 (Penicilline G, Cephaloridine), 抗ウイルス薬 (azidothymidine, acyclovir), 非ステロイド抗炎症薬 (salicylate, acetylsalicylate, indomethacin), ACE阻害薬 (captopril), 抗がん剤 (methotrexate), 代謝物 (p-アミノ馬尿酸, 尿酸), オクサトキシニンA, oAMP, oGMP
	OAT2	NM_006672	FEBS Lett., 428, 179-182, 1998	肝、腎	サリチル酸, アセチルサリチル酸, p-アミノ馬尿酸, プロスタグランジンE ₂ 等
	OAT3	AB017446	J. Biol. Chem., 274, 13675-13680, 1999	腎、肝、脳	p-アミノ馬尿酸, オクサトキシニンA, エストロン硫酸塩, シメチジンなど
	OAT4		J. Biol. Chem., 275, 4507-4512, 2000	胎盤、腎	各種薬物の硫酸塩
有機アニオントランスポート	OATP-A	U21943	Biochem. Biophys. Res. Commun., 273, 251-260, 2000	肝、脳	エストロン硫酸塩, プロスタグランジンE ₂
	OATP-B	AB026256	Biochem. Biophys. Res. Commun., 273, 251-260, 2000	脾、肝、肺、腸管、卵巣、精巣、肝	タウロコロール酸, プラバスタチン, デビドロエプアンドロステロン硫酸塩, エストラジオールグルクロン酸塩, プロスタグランジンE ₂ , トロンボキサンB ₂ , ロイコトリエンB ₂ など
	OATP-C/LST1/OATP-2	AB026257	Biochem. Biophys. Res. Commun., 273, 251-260, 2000	腎	エストロン硫酸塩, プロスタグランジンE ₂
	OATP-D	AB031050	Biochem. Biophys. Res. Commun., 273, 251-260, 2000	腎	エストロン硫酸塩, プロスタグランジンE ₂
	OATP-E	AB031051	Biochem. Biophys. Res. Commun., 273, 251-260, 2000	腎	エストロン硫酸塩, プロスタグランジンE ₂
	PGT	NM_005630	Science, 268, 868-869, 1995	脾、肝、腸管、卵巣	プロスタグランジン (PGE ₂ , PGF ₂ α, D ₂), トロンボキサンB ₂ など
	oatp1	AF148218	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 133-137, 1994	肝、腎、大腸、脳、肺、骨格筋	有機酸 (cholate, taurocholate, BSP, estron sulfate, digitoxin, ouabain, エナラプリル, テモカプリラート, プラバスタチン, エストロン等の硫酸塩, エストラジオール等のグルクロン酸塩, ロイコトリエンC ₄ , ウアバイン, BQ-123等)
	oatp2	U88036	Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 10346-10350, 1997	肝、腎、脳	胆汁酸, プラバスタチン, エストロン等の硫酸塩, エストラジオール等のグルクロン酸塩, 甲狀腺ホルモン, ウアバイン, ジゴキシン, BQ-123, ロイコトリエンC ₄ など
	oatp3	U95001	J. Biol. Chem., 273, 22395-22401, 1998	肝、脳	
	OAT-K1	D79981	J. Biol. Chem., 271, 20719-20725, 1996	腎	
	Npt1	X71355	Genomics, 18, 255-359, 1993	腎、肝	p-アミノ馬尿酸, β -ラクタム抗生物質 (ペニシリンG, フアロペネム等), フォルカルネット, マクロン酸

(表 2)

種類	名称	アクセッション番号 (GenBank, NCBI)	文献 (Journal, vol, pages, year)	組織分布	輸送する基質
モカルボン酸トランスポーター	MCT1	D63834	Biochem. Biophys. Res. Commun., 217, 370-375, 1995	ほぼ全身の正常組織	乳酸、 β -セドロキシ酪酸、酢酸、プロピオン酸
有機カチオントランスポーター	AE2				安息香酸、ニコチン酸、プロピオン酸、酪酸、バルプロ酸
	OCT1	X78855	Nature, 372, 549-552, 1994	肝、腎、腸管上皮細胞 (血管側)	コリン、ドパミン、アドレナリン tetraethyl ammonium, N-メチルニコチンアミド、シメチジン、ア マンタジン
	OCT2	D83044	Biochem. Biophys. Res. Commun., 224, 500-507, 1996	腎、脳	
	OCT3	AF055286	J. Biol. Chem., 273, 15971-15979, 1998	腎、脳、腸管	
有機カチオントランスポーター	OCTN1	AB007448 AB016257	FEBS Lett., 419, 107-111, 1998	腎、気道、骨髄、骨格 筋、前立腺、肺、膵、胎 盤、心、子宮、脾、腎 臓、多くのがん細胞	テトラエチルアンモニウム、キニジン、ピリラミン、ペラバミル、 カルニチン
	OCTN2	AB015050 AB015800	J. Biol. Chem., 273, 20378-20382, 1998 Nature Genet. 21, 91-94 (1999)	腎、骨格筋、胎盤、心、 小腸、前立腺、膵臓、気 道、甲状腺、多くのがん 細胞	カルニチン、アセチルカルニチン、ピリラミン、ペラバミル
	OCTN3	NM_019723	J. Biol. Chem., in press (Sep. 28, 2000)		
	PEPT1	U13173	J. Biol. Chem., 270, 6456-6463, 1995 Biochim. Biophys. Acta, 1305, 34-38, 1996	小腸、腎、がん細胞	ジペプチド、トリペプチド、 β -ラクタム系抗生物質 (cyclacin, cephadroxil, cephalexin, cephtridone, cefibuten等)、ACE阻害 剤 (captopril)、抗がん剤 (ベスタチン)、抗ウイルス薬 (valacyclovir)
ペプチドトランスポーター	PEPT2	D83149	Biochim. Biophys. Acta, 1240, 1-4, 1995	腎	cefadroxil

(表 3)

種類	名称	アクセッション番号 (GenBank, NCBI)	文献 (Journal, vol, pages, year)	組織分布	輸送する基質
アミノ酸トランス ポーター	LAT1	AB015432	J. Biol. Chem., 273, 23629-23632, 1998	ほぼ全身の正常組織	中性アミノ酸 (leucine), アミノ酸類似化合物 (T3, T4, L-dopa, gabapentin, merpharan)
	LAT2	AF171669	J. Biol. Chem., 274, 19745-19751, 1999		
	BAT1	AB029559	J. Biol. Chem., 274, 28845-28848, 1999		
	Xc-	AB022345	J. Biol. Chem., 274, 11455-11458, 1999		
	y+LAT1	AJ130718	Nature Genet., 21, 293-296, 1999		
	y+LAT2	NM_012244	EMBO J., 18, 49-57, 1999		
	asc1		J. Biol. Chem., 275, 9690-9698, 2000		
	MDR1	M62425	Cell, 47, 381-389, 1986		
	MRP1	AJ277881	Science, 258, 1650-1654, 1992		
	MRP2	AF261713	Science, 271, 1126-1128, 1996		
	MRP3	AF009670			
				各種がん、腎、肝、脾、副腎、肺、心、骨格筋	抗がん剤 (daunorubicin, doxorubicin, etoposide, vincristine, vinorelbine, mitomycin C, paclitaxel) その他の薬物 (digoxin, progesterone, morphine, rifampicin, diltiazem, nifedipine, erythromycin)
				肝	グルタチオン、各種塩化物、メトキシセート、ブライバスタチン、デモカプリラート、ニューキノロン抗菌薬

上記膜組織を透過できない高分子分子構造としては、小腸、腎臓、脳、肝臓、胎盤、脾臓、肺、胃、卵巣、精巣、脾臓、大腸、骨格筋、気道、骨髄、前立腺、心臓、子宮、脊髄、副腎、甲状腺等の生体膜組織から、透過できない又は透過しにくい高分子構造をとるものであればどのようなものでもよく、例えば、多数の環状分子に線状分子が貫通し、該線状分子の両末端を嵩高い置換基でキャップしたポリロタキサン化合物等の超分子構造や、 α -シクロデキストリンを含む誘導体若しくは包接構造などを具体的に挙げることができる。上記環状分子としては、例えば、シクロデキストリン、 α 、 β 、又は γ -シクロデキストリン、クラウンエーテル、サイクロフラクタン等の分子を具体的に挙げることができるがこれらに特に限定されるものではない。また、線状分子としては、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、若しくはポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとの共重合体、ポリアミノ酸、多糖類等の分子を例示することができるが、嵩高い置換基の導入が行えるポリエチレングリコールなどが好ましい。嵩高い置換基としては、上記環状分子の脱離を防止するものであればどのようなものでもよく、例えば、N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、リシン、アルギニン、ヒスチジンのいずれかの単位若しくはこれらの誘導体、複数の単位からなるオリゴペプチド等を具体的に挙げることができるが特に制限されるものではない。

本発明において組織特異的トランスポーターに認識されるリガンドとしては、有機アニオン性物質、有機カチオン性物質、ペプチド性物質、アミノ基を有する物質等の物質を具体的に挙げることができ、例えば、

小腸に特異的に発現するトランスポーターであるオリゴペプチドトランスポーター1 (PEPT1) に認識されるリガンドとしては、ジペプチド、トリペプチド等のオリゴペプチドや、その構成アミノ酸残基に修飾を施した誘導体、セファドロキシル、セフチブテン等の β -ラクタム抗生物質、カプトプリル等のACE阻害剤、抗がん剤のベスタチン、抗ウイルス薬のバラシクロビルなどを具体的に挙げるができるが、これらに限定されるものではない。

本発明により提供される、組織機能不全疾患治療薬としては前記組織特異的トランスポーター機能阻害剤を、慢性腎不全進行抑制治療薬としてはタンパク質の吸収を抑制する組織特異的トランスポーター機能阻害剤を有効成分として含有するものを挙げることができ、これら治療薬は、経口、静脈内、腹腔内、鼻腔内、皮内、皮下、筋肉内等により投与することができる形状のものが好ましい。投与すべき有効量は、治療薬の種類・組成、投与方法、患者の年齢や体重等を考慮して適宜決定することができ、これらを1日あたり1～数回投与することが好ましい。また、経口投与する場合、通常、製剤用担体と混合して調製した製剤の形で投与される。この際、製剤に用いることができる担体としては、製剤分野において常用され、かつ本発明の組織特異的トランスポーター機能阻害剤と反応しない物質が用いられる。経口投与の仕方は、食事と同時に、或いは食事の前に予め投与しておくことができる。

また、剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁剤、坐剤、軟膏、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、吸入剤、注射剤等を具体的に例示することができ、これらの製剤は常法に従って調製され、特に液体製剤にあっては、用時、水又は他の適当な媒体に溶解又は懸濁する形態とすることもできる。また錠剤、顆粒剤は周知の方法でコーティングしてもよい。注射剤の場合には、本発明のペプチド修飾高分子を

水に溶解させて調製されるが、必要に応じて生理食塩水あるいはブドウ糖溶液に溶解させてもよく、また緩衝剤や保存剤を添加してもよい。またこれらの製剤は、治療上価値のある他の成分を含有していてもよい。

本発明の組織特異的トランスポーター機能阻害剤は、組織機能不全疾患又は慢性腎不全の症状改善用食品素材として、プリン、クッキー、パン、ケーキ、ゼリー、煎餅などの焼き菓子、羊羹などの和菓子、冷菓、チューインガム等のパン・菓子類や、うどん、そば等の麺類や、かまぼこ、ハム、魚肉ソーセージ等の魚肉練り製品や、ヨーグルト、ドリンクヨーグルト、ジュース、牛乳、豆乳、酒類、コーヒー、紅茶、煎茶、ウーロン茶、スポーツ飲料等の各種飲料や、みそ、しょう油、ドレッシング、マヨネーズ、甘味料等の調味料や、豆腐、こんにゃく、その他佃煮、餃子、コロッケ、サラダ等の各種総菜へ配合し、機能性食品として摂取することもできる。

本発明の好適な実施例について以下に説明するが、本発明はこれらに何ら限定されるものではない。

実施例 1 [ポリロタキサン (P R X) の合成 ; 図 1 参照]

1-1 (ポリエチレングリコールと α -シクロデキストリンからなる擬ポリロタキサンの調製)

α -シクロデキストリン (α -CD) 飽和水溶液 (100 g / 600 ml) に超音波をかけながら、両末端をアミノ化したポリエチレングリコール (PEG-BA, $M_n = 4000$) の水溶液 (9.14 g / 85 ml) を滴下した。約 1 時間超音波にあてながら攪拌後、一晚放置した。その後、遠心分離により沈殿物を回収し、60℃減圧下にて乾燥し、シクロデキストリンにポリエチレングリコール (PEG) が貫通した線状分子である擬ポリロタキサン 78.13 g を調製した。

1-2 (末端キャップ剤の調製)

α -CDの脱離を防止する嵩高い置換基としてN-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニン(Z-L-Phe、Zはベンジルオキシカルボニル基を表す)を導入するために、Z-L-Pheのカルボキシル基の活性化を行った。N-ヒドロキシスクシンイミド(HOSu)
5 38.46 g (0.33 mol)、及びZ-L-Phe 100 g (0.33 mol)を、ジオキサン850 ml中に溶解させた。次に、氷冷下にてN,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC) 68.90 g (0.33 mol)を加え約一時間攪拌した。その後、冷蔵庫に一晩放置した。生じた沈殿物を除去後、上澄み液を減圧濃縮し、得られた濃縮液をジエチルエーテル中で再沈殿した。生じた沈殿物を常温で減圧乾燥後回収し、ジクロロメタンおよび石油エーテルを用いて再結晶した後、試料をろ過して減圧乾燥し、白色針状結晶のZ-L-Pheのスクシンイミドエステル(Z-L-Phe-OSu) 105.84 g (0.26 mol)を得た。

15 1-3 (Z-L-Phe-OSuを用いたポリロタキサンの合成)

実施例1-1で得られた擬ポリロタキサン24.3 g (0.68 mmol)、及び実施例1-2で得られたZ-L-Phe-OSu 28.8 g (72 mmol)を、ジメチルスルフォキシド30 mlに加え、不均一状態で約4.5日間攪拌した。なお、Z-L-Phe-OSu(-OSu)
20 Su)と擬ポリロタキサン末端アミノ基(-NH₂)とのモル比は、50:1の割合で行った。反応後、大量のエーテル中に投じ、生じた白色沈殿を減圧乾燥後回収した。未反応のZ-L-Phe-OSu、 α -CD、及びPEG-BAを取り除くため、アセトンおよび水によりそれぞれ3回ずつ洗浄操作を行った。最終的に得られた試料を60℃減圧下にて乾燥し、擬ポリロタキサンの両末端を嵩高い置換基でキャップしたポリロタキサン(白色粉末) 13 gを得た。なお、合成したポリロタキサ
25

ンの構造解析は¹H NMRスペクトル測定 (Varian 社製 ; 300 MHz FT-NMR) により行った。

実施例2 [ペプチドトランスポーターに認識されるジペプチドの合成]

ペプチドトランスポーターに認識されるジペプチドアナログの一つであるバリルリジン (Val-Lys:VK) 誘導体を Abe らの手法 (Bioconjugate Chem. 10, 24-31, 1999) に従い合成した (図2参照)。

2-1 (Boc-Val-Lys (Cbz) -Ot-Bu の合成)

第3ブチルオキシカルボニル (Boc) -Val (2.17 g, 10 mmol)、ε-ベンジルオキシカルボニルリジン-tert-ブチルエステル塩酸塩 [Lys-(Cbz)-Ot-Bu·HCl (3.37 g, 10 mmol)]、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) (4.13 g, 20 mmol)、及びジメチルアミノピリジン (DMA P) (1.93 g, 10 mmol) を、それぞれ80 ml のN,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 中に溶解させ、0℃にて30分攪拌を行った。その後、水溶性カルボジイミド塩酸塩 (WSC·HCl) (1.93 g, 10 mmol) を加えて更に0℃で2時間攪拌した後、室温にて4時間攪拌して酢酸エチルで希釈した。酢酸エチルで希釈した溶液を、0.6 M クエン酸水溶液 (100 ml)、水 (100 ml)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (100 ml)、水 (100 ml)、10% 食塩水 (100 ml) にて順次洗浄を行った。その結果、得られた油層を硫酸ナトリウムで乾燥させ、減圧濃縮後、カラムクロマトグラフィー (SiO₂, 75:1 のクロロホルム-メタノール) で精製した。溶出ピークを薄層クロマトグラフィーより確認し、得られた最初の画分を減圧濃縮・減圧乾燥して非結晶白色粉末の Boc-Val-Lys (Cbz) -Ot-Bu を得た (3.6 g, 収率: 66%)。

2-2 (Boc-Val-Lys-Ot-Bu·HCl の合成)

実施例 2-1 で得られた Boc-Val-Lys (Cbz)-Ot-Bu の Cbz 基を接触還元法で脱保護した。H₂ ガス存在下で、酢酸 150 ml 中に Boc-Val-Lys (Cbz)-Ot-Bu を溶解した後、パラジウムカーボン (300 mg) を加え 3 日間攪拌した。パラジウムカーボンをろ過にて取り除き、溶液を減圧濃縮し、濃縮液をイオン交換クロマトグラフィーにかけた。イオン交換体として Diaion WA-30 (HCl form) を使用し、展開溶媒はメタノール-水 (10 : 1) で行った。溶液を減圧濃縮した後、トルエンを用いて共沸し、白色固体の Boc-Val-Lys-Ot-Bu · HCl を得た (2.2 g, 収率 : 51%)。

実施例 3 [Val-Lys-ポリロタキサン結合体の合成 ; 図 3 参照]
3-1 (N, N-ジカルボニルイミダゾールによるポリロタキサン中の水酸基の活性化)

実施例 1 で得られたポリロタキサン 200 mg (-OH : 3 mmol) を窒素雰囲気下、ジメチルスルフォキシド (DMSO) 10 ml に溶解させた。完全に溶解後、N, N-ジカルボニルイミダゾール (CDI) を 1000 mg (6.2 mmol) 投じ、攪拌を続けた。3 時間後、エーテル中での再沈殿より未反応の CDI を除去し、CDI 活性化ポリロタキサン (CDI-PRX) 374 mg を得た。なお、全水酸基全てに導入した場合を 100% として、上記 CDI-PRX の活性化率は 30% であった。

3-2 (ポリロタキサンへの Val-Lys の導入)

上記 CDI-PRX 200 mg (-OH : 1.8 mmol) を窒素雰囲気下にて DMSO 2 ml に溶解させ、実施例 2 で得られた Boc-Val-Lys-Ot-Bu · HCl を 1300 mg (3.3 mmol) と、N, N-ジイソプロピルエチルアミン (DIPEA) を 700 μl

- (3.5 mmol) 加えて24時間攪拌した。その後、ヒドロキエチルカルバモイル (HEC) 基をポリロタキサンへ導入し、水に対する溶解性を向上させるため、アミノエタノール (AMEt) を2 ml (33 mmol) 加え、24時間攪拌した。攪拌後、分画分子量1000の透析膜を用い、水中にて透析を行った。透析終了後、凍結乾燥を行い Boc-Val-Lys-Ot-Bu を導入したポリロタキサン (PRX) を回収した。この回収物を氷冷下、ジクロロメタン (DCM) 7 ml 及びトリフルオロ酢酸 (TFA) 3 ml の混合溶液中に溶解し、1時間攪拌して Boc 基および Ot-Bu 基を除去した。その後、エーテル中での再沈殿を繰り返してサンプルを洗浄し、減圧乾燥して白色固体の Val-Lys-ポリロタキサン結合体 (113 mg) を得た。また、上記と同様の方法により、表4及び表5に示す量の各試薬を用いて、他の6種類の Val-Lys-ポリロタキサン結合体 (VK-PRX: 化1) と2種類の Val-Lys- α -CD (VK- α -CD) を合成した。
- (表4)

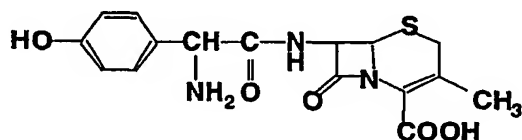
VK-PRX No.	CDI-PRX における OH 基 (mmol)	Val-Lys (mmol)	DIPEA (mmol)	AMEt (mmol)	DMSO (ml)	合成量 (mg)
1	3.17	3.21	3.5	--	2	198
2	3.02	6.31	7.2	--	2	195
3	3.20	0.69	6.9	33	2	93
4	3.29	6.55	3.5	33	2	95
5	3.29	6.54	5.0	33	2	80
6	3.07	6.21	7.5	33	2	37
7	1.76	3.25	3.5	33	2	113

(表 5)

VK- α -CD No.	CDI-PRX に おける OH 基 (mmol)	Val-Lys (mmol)	DIPEA (mmol)	AMet (mmol)	DMSO (ml)	合成量 (mg)
1	5.56	0.62	2.68	--	5	297
2	5.56	0.62	2.68	5.6	5	338

(化学式 1)

5



実施例 4 [Val-Lys-ポリロタキサン結合体のキャラクタリゼーション]

10 4-1 (Val-Lys-ポリロタキサン結合体中の α -CD貫通数およびヒドロキエチルカルバモイル基導入数の算出)

上記 7 種類の VK-PRX 中の α -CD貫通数 (α -CD/PRX) を¹H NMR スペクトルの積分値から算出した。その結果を表 6 に示す。

(表 6)

15

VK-PRX No.	M _w	α -CD/PRX	Val-Lys/PRX	AMet/PRX
1	25,300	21	1	
2	19,900	14	7	
3	30,560	22	1	71
4	34,600	25	2	86
5	24,100	16	2	57
6	18,240	9	11	36
7	43,200	21	46	98

20

4-2 (アミノ酸分析法による VK-PRX 及び VK- α -CD 中の V

a l - L y s 導入数の定量)

実施例 3 により得られた 7 種類の V K - P R X 及び 2 種類の V K - α - C D をそれぞれ、6 N H C l に少量 (1 ~ 2 m g) 溶解させ、N₂ 置換を行った。次に 110℃ にて約 22 時間加熱分解させた。H C l を完全
5 完全に除去後、0.02 N H C l (2 ~ 4 m l) にて希釈しサンプルとした。この作製したサンプルをアミノ酸分析計 (日立アミノ酸分析形; L - 8500 A) により定量した。かかるアミノ酸分析法により得られた V K - P R X 又は V K - α - C D の両末端における P h e 残基と V a l 残基との組成から、V K - P R X 又は V K - α - C D の 1 分子あたりの
10 V a l - L y s 数 (V a l - L y s / V K - P R X 又は V a l - L y s / V K - α - C D) を以下の 2 つの式を用いて算出した (表 6 及び表 7)。なお、かかる 2 つの式は次のように導いた。また、表 6 中の A M E t / P R X と表 7 中の A M E t / α - C D は、V X - P R X 又は V K - α - C D 中に導入されたアミノエタノール (A M E t) 分子数を、プロトン
15 核磁気共鳴 (¹H - N M R) スペクトル上に観察されるアミノエタノール由来のメチレンピークと α - C D 中のアノマー位のメチンピークとの積分値の比から算出した。

(表 7)

	VK- α -CD			
	No.	M _w	Val-Lys/ α -CD	AMEt/ α -CD
20	1	1,220	1	
	2	1,400	1	3

V a l - L y s - A M E t - R X は、一分子あたり P h e 残基を二分子有するので、測定するサンプル中に存在する V a l - L y s - ポリロ
25 タキサン結合体のモル数 (n_{RX}) は、サンプル中の P h e 残基のモル数を n_{P h e} とすると式 (1) となる。

を $n_{p h e}$ とすると式 (1) となる。

(数式 1)

$$n_{R X} = \frac{n_{p h e}}{2} \quad (1)$$

また、V a l - L y s - ポリロタキサン結合体一分子あたりの V a l
 5 - L y s 導入数 ($N_{V a l - L y s}$) は、V a l 残基のモル数を $n_{V a l}$ とし、
 V a l - L y s - ポリロタキサン結合体のモル数を $n_{R X}$ とすると式
 (2) となる。

(数式 2)

$$N_{V a l - L y s} = \frac{n_{V a l}}{n_{R X}} \quad (2)$$

10

実施例 5 [H e L a - h P E P T 1 細胞を用いた高分子 P E P T 1 阻害
 剤に対する基質認識性の検討]

実施例 4 で得られた V K - P R X、及びその構成成分である V K - α
 - C D の P E P T 1 への認識性の検討を目的として、h P E P T 1 安定
 15 発現 H e L a (H e L a - h P E P T 1) 細胞を用いて [3 H] G l y -
 S a r の取り込みに対する阻害効果を検討した。文献 (Int. J. Cancer.
 88, 274-80, 2000) 記載の方法で作製した H e L a - h P E P T 1 細胞、
 又は H e L a - p c D N A (M o c k) 細胞を、マルチディッシュ (Nunc
 社製) に 10^6 細胞/ウエルで細胞を播種し、 37°C で 5 % CO_2 下イ
 20 ンキュベーター (ヒラサワ社製) で 4 日間培養した。培養液は 10 % F
 C S (Gibco Laboratories 社製)、2 mM L - グルタミン、及び 1 m
 g / m l G 4 1 8 を含む D M E M (Dulbecco's modified Eagle's
 medium ; Gibco Laboratories 社製) を用いた。培養後、培養液を吸引し、
 各細胞を 37°C の Hanks' balanced salt solution (H B S S ; 0.9

- 5 2 mM CaCl_2 、5.36 mM KCl 、0.441 mM KH_2PO_4 、0.812 mM MgSO_4 、136.7 mM NaCl 、0.385 mM Na_2HPO_4 、25 mM D-グルコース、10 mM MES : pH 6.0) 1 ml で3回洗浄後、5分間ブレインキュベーションした。
- 5 その後、図4及び表8に示す濃度の各阻害剤と、 $[\text{}^3\text{H}(\text{G})]\text{Gly-Sar}$ (476 nM) とを含むHBSSを25.0 μl 加え、37℃で取り込み反応を開始させた。阻害剤VK-PRX (No. 1~6) の濃度は最大溶解濃度を500 μM 以下で調製し、フィルターを用いて濾過したものを用いて取り込み反応を行った。なお、開始時に各ディッシュ内
- 10 から反応溶液を10 μl のミニバイアルに分取し、液体シンチレーションカクテル (Clear-sol I、Nacalaitesque 社製) を4 ml 加えて液体シンチレーションカウンター (LSC-5100、Aloka Co. Ltd. 社製) にて反応溶液中の放射活性を測定した。反応開始から2分後に各ディッシュ中の反応溶液を吸引して取り除き、細胞を氷冷HBSS (HEPES : pH 7.4) 1 ml で3回洗うことにより反応を停止させた。その後、各
- 15 ディッシュに5 N NaOH を250 μl 加えて細胞を可溶化させ(2時間以上)、5 N HCl を250 μl 加えて中和させた後、全量をミニバイアルに入れ液体シンチレーションカクテル (Clear-sol I、Nacalaitesque 社製) を4 ml 加えて細胞に取り込まれた放射活性を測定した。
- 20 また、上記培養後における細胞タンパク質量を測定するために、培養後の細胞を可溶化後、Bio-Rad Protein Assay 試薬 (Bio-Rad Co. 社製) を加えた後、595 nmの吸光度を測定した。なお、標準物質としてはBSA (bovine serum albumin) を用いた。以上の結果から、細胞内への $[\text{}^3\text{H}]\text{Gly-Sar}$ の取り込み量[cell/medium ratio ($\mu\text{l}/\text{mg} \cdot \text{protein}$)] を式(3)により求めた。その結果を図4及び表8
- 25 に示す。なお、図4中のコントロールの値は、阻害剤非存在下で取り込

み反応を行った結果を示す。これらのことから、VK-PRX (No. 1, 2, 4, 6) により $[^3\text{H}]\text{Gly-Sar}$ の取り込みが有意に減少することがわかった。また、VK-PRX (No. 7) 及びVK- α -CDを用いた場合においても、濃度依存的に $[^3\text{H}]\text{Gly-Sar}$ の取り込みが阻害されることがわかった。しかし、Val-Lysが結合していない α -CDでは、有意な阻害効果は認められなかった。

(数式 3)

$$\text{cell/medium ratio (細胞対培地薬液濃度比)} (\mu\text{L/mg protein}) = \frac{\text{細胞に取り込まれた放射活性 (dpm/well)}}{\text{薬液中の放射活性濃度 (dpm/mL)} \times \text{蛋白質量 (mg protein/well)}} \quad (3)$$

10 (表 8)

阻害剤	濃度 (mM)	コントロールに対する [^3H]Gly-Sarの取り込み量%
Gly-Sar	10	12.93 \pm 2.45
Val-Lys	3	21.13 \pm 1.80
VK- α -CD (No.1)	3	37.05 \pm 1.52
VK- α -CD (No.2)	3	77.09 \pm 5.67
α -CD	3	125.87 \pm 23.34
VK-PRX (No.1)	< 0.5	37.95 \pm 1.82
VK-PRX (No.2)	< 0.5	76.68 \pm 4.62
VK-PRX (No.3)	< 0.5	131.12 \pm 3.75
VK-PRX (No.4)	< 0.5	67.32 \pm 8.57
VK-PRX (No.5)	< 0.5	94.04 \pm 4.21
VK-PRX (No.6)	< 0.5	77.20 \pm 3.12
VK-PRX (No.7)	1	52.93 \pm 3.69
VK-PRX (No.7)	0.5	76.08 \pm 5.82
VK-PRX (No.7)	0.3	83.95 \pm 10.78
VK-PRX (No.7)	0.1	104.43 \pm 8.70
セファドロキシル	10	27.69 \pm 1.44
セファレキシシ	10	70.12 \pm 1.45
Gly	10	97.71 \pm 7.10

実施例 6 [高分子 P E P T 1 阻害剤のプレインキュベーションの効果]

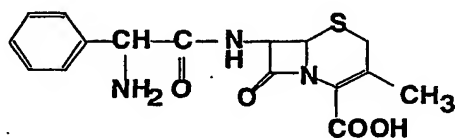
V K - α - C D をポリロタキサン化したときの P E P T 1 への認識性の変化を検討することを目的として、V K - P R X (N o . 7) 及び V K - α - C D (N o . 2) で細胞をあらかじめプレインキュベーションしたときの [3 H] G l y - S a r の取り込みへの影響を h P E P T 1 安定発現 H e L a 細胞 (H e L a - h P E P T 1) を用いて検討した。図 5 に示す濃度の各阻害剤存在下又は非存在下で 3 0 分間プレインキュベーションし (白いボックス) 、反応溶液を除去した後、同じ濃度の阻害剤と [3 H] G l y - S a r (4 7 6 n M) とを含む H B S S 中で取り込み反応を行う以外は、実施例 5 の方法と同様に行い [3 H] G l y - S a r の取り込みに対する阻害効果を測定した (黒いボックス) 。その結果を図 5 に示す。なお、図中の M o c k は H e L a - p c D N A 3 細胞による取り込みを示す。このことから、V K - P R X (N o . 7) 又は V K - α - C D (N o . 2) のプレインキュベーションの有無によって、[3 H] G l y - S a r の取り込みに変化がみられた。V K - P R X (N o . 7) では有意な取り込みの減少が認められたのに対して、V K - α - C D (N o . 2) では有意な取り込みの増加が認められた。また、V K - α - C D (N o . 2) を超分子化した V K - P R X (N o . 7) の方がより強い阻害効果がみられたが、V a l - L y s が結合していない α - C D による阻害効果は認められなかった。

実施例 7 [セファドロキシル (C D X) の体内動態変動による V K - P R X の吸収抑制効果の評価]

最近、腎臓のグルコーストランスポーター阻害剤である T - 1 0 9 5 が、S T Z ラット (Streptozotocin-induced diabetic rats) における高血糖状態を改善することが報告されている (Metabolism, 49, 990-5,

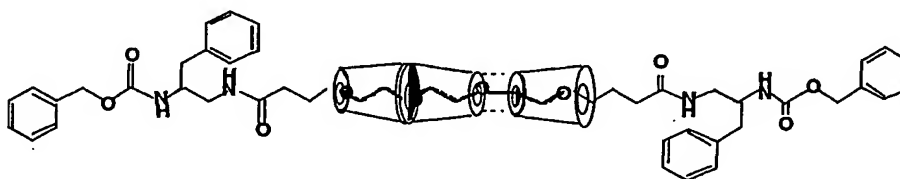
2000)。このことは、トランスポーター機能を抑制し生理活性物質の移行を制御することによって、病態を改善することが可能となることを示唆するものであり、新たなドラッグターゲットとしても期待されている。また、ヒトにおいて、P E P T 1 の基質である、β-ラクタム系抗生物質であるセファドロキシル [C D X : cefadroxil (化 2)] のバイオアベイラビリティが、β-ラクタム系抗生物質であるセファレキシン [C E X : cephalixin (化 3)] の同時投与によって低下することが報告されている (Eur. J. Clin. Pharmacol. 41, 179-83, 1991)。この報告は、P E P T 1 を介した C D X の消化管吸収を、同じく P E P T 1 の基質である C E X が抑制したことを示すものである。そこで、ラットを用いて P E P T 1 阻害剤による C D X の吸収抑制効果を検討した。

(化学式 2)

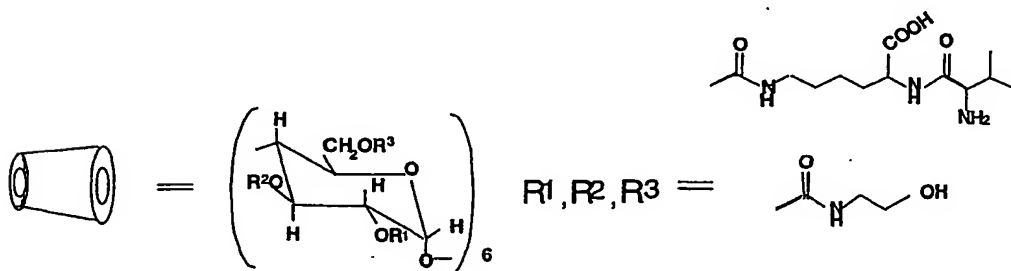


15

(化学式 3)



20



25

7～8週齢のSD (Sprague-Dawley) 系ラット (雄性; 日本S L C社製) に50 mg/kgのネンプタール (ダイナボット (株) 社製) を腹腔内投与して麻酔し、背位固定後、頸静脈及び大腿静脈 (瞬時静注時のみ) にカニューレーション [シリコンチューブ 内径×外径 (0.5×1)] を施し、さらに、その先端を皮下に通し頸背部から貫通後、切開部を縫合した。その後、かかる動物を一晩 (約18時間) 絶食させ、各薬剤を経口ゾンデ針により経口投与、あるいは、大腿静脈投与した。各薬剤投与後、経時的にカニューレーションチューブから血液400 µlを採取し、以下の方法で血漿中におけるCDX濃度を測定し、式(4)又は式(5)、式(6)、式(7)及び式(8)により、各パラメーターを算出してWinNonlin (Scientific Consulting Inc.社製) のコンパートメントモデル解析法により解析した (辻 彰 編集、わかりやすい生物薬剤学, 廣川書店, 178-188, 1996)。

上記採取した血液400 µlを同量の生理食塩水で置換し、1.5 mlのマイクロチューブに分注して遠心分離 (12000 rpm, 5分間, 4℃) を行い血漿を取り出した。血漿150 µlを1.5 mlのマイクロチューブに移し、さらに同量のアセトニトリルを加え除蛋白処理し、遠心 (12000 rpm, 5分間, 4℃) 後、上清250 µlを1.5 mlのマイクロチューブに移し蒸発乾固し、以下のHPLC条件にて再構築した。カラムはTSKgel ODS-80Ts (東洋ソーダ社製) を、ポンプ、紫外・可視光検出器、インテリジェントオートサンプラー、及びカラムオーブンは880-PU、875-UV、AS-1555-10、及びCo-1565 (全て日本分光 (株) 社製) を、インテグレーターはChromatopac C-R3A (島津製作所 (株) 社製) を使用した。また、カラム温度35℃で、移動相に7%のアセトニトリル (0.1 Mの酢酸緩衝液 (pH 3.0) 及び0.01 Mの1-ペンタンスルホン酸ナトリウムを含む) を用いて、流速0.9 ml

1 / m i n で分離溶出し、波長 2 4 0 n m で検出し、血漿中における C D X 濃度を求めた。

(数式 4)

$$C = \frac{ka \cdot F \cdot D [\exp(-ke \cdot t) - \exp(-ka \cdot t)]}{Vd(ka - ke)} \quad (4)$$

- 5 なお、式中の C は血漿中における C D X の濃度を、F は吸収率を、D は投与量を、k a は吸収速度定数を、k e は消失速度定数を、V d は分布容積を、t は薬剤投与してから血液を採取した時間をそれぞれ表す。

(数式 5)

$$C = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t) + B \cdot \exp(-\beta \cdot t) \quad (5)$$

- 10 ただし、 $A = D(k_{21} - \alpha) / V_1(\beta - \alpha)$

$$B = D(k_{21} - \beta) / V_1(\alpha - \beta)$$

なお、式中の α は分布相の傾きを、 β は消失相の傾きを、 V_1 は中枢コンパートメントの分布容積をそれぞれ表す。

(数式 6)

- 15 $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-6} + C_6 / ke \quad (6)$

なお、式中の A U C は血漿中薬物濃度－時間曲線下面積を、 C_6 は薬物投与 6 時間後の血漿中濃度をそれぞれ表す。

(数式 7)

$$CL = Dose / AUC_{0-\infty} \quad (7)$$

- 20 なお、式中の C L は全身クリアランスを、D o s e は薬物投与量をそれぞれ表す。

(数式 8)

$$Vd = CL / ke \quad (8)$$

- 7-1 (ラットを用いた C D X の P E P T 1 を介した輸送に対する C E
25 X の阻害効果)

ヒトにおいて、PEPT1の基質であるCDXのバイオアベイラビリティが、 β -ラクタム系抗生物質であるCEXの同時投与によって低下するということが報告されている (Eur. J. Clin. Pharmacol., 41, 179-83, 1991)。VK-PRXのPEPT1阻害効果を明らかにすることを目的とし、薬剤として2.5 mg/kgのCDX (○)、5 mg/kgのCDX (●)、又は、2.5 mg/kgのCDX及び45 mg/kgのCEX (▲)をそれぞれ前記ラットに経口投与し、実施例7記載の方法によりラットにおけるCDXの吸収をCEXが抑制するかどうかを検討した。なお、2.5 mg/kgのCDX及び45 mg/kgのCEX (▲)においては、CDXの投与30分前にCEXをラットに経口投与した。上記各ラットにおける体内動態の各パラメーターは、CDXの血中濃度推移をもとに式(4)、式(6)、式(7)及び式(8)を用いて算出し、評価した。その結果を図6及び表9に示す。なお、図及び表に示す値は、3～4回の個別の実験により求められた平均値 \pm S.E.M.を表す。CDXを2.5 mg/kg又は5 mg/kgで経口投与したときの結果から、 $AUC_{0-\infty}$ 及び C_{max} に飽和現象が認められた。さらに、CDXを2.5 mg/kg投与したときの吸収率が86%と十分なものであった。CDXは生体内で安定であることを含めて、PEPT1を介した吸収活性を評価するマーカー化合物としてCDXが適切であるということが示された。また、CEX (45 mg/kg)の前投与後にCDX (2.5 mg/kg)を投与したとき、CDX単独投与時と比較して血漿中濃度-時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) は約30%減少し、吸収速度定数 (k_a) は2.42から1.53 h^{-1} に、最高血漿中濃度 (C_{max}) は0.8から0.5 $\mu g/ml$ にそれぞれ有意に減少した。以上の結果から、ヒトにおいての報告がラットで再現された。

(表 9)

投与量 (mg/kg)	2.5	5	2.5 + 45
ka (hr ⁻¹)	2.42 ± 0.08	2.09 ± 0.23	1.53 ± 0.27*
ke (hr ⁻¹)	0.33 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.37 ± 0.03
Tmax (hr)	0.95 ± 0.03	1.09 ± 0.08	1.25 ± 0.13
Cmax (µg/mL)	0.80 ± 0.03	0.56 ± 0.07	0.50 ± 0.04
AUC _{0-∞} (µg·min/mL)	198 ± 4.82	162 ± 13.3	144 ± 5.21

7-2 (VK-PRXタイプによる吸収抑制効果の変化)

- 次に、薬剤として5 mg/kgのCDXのみ(○)、又は、10 mg/kgのVK-PRK [0.1%のポリアクリル酸ナトリウム(PAN A)塩水に懸濁したVK-PRK]及び5 mg/kgのCDX(●)を用いて、前記ラットに経口投与し、実施例7記載の方法によりラットにおけるCDXの吸収をVK-PRXが抑制するかどうかを検討した。なお、上記VK-PRKは、5 mg/kgのCDX(●)を投与する30分前に投与した。その際、CDXの血中濃度推移をもとに式(4)、式(6)、式(7)及び式(8)を用いて体内動態の各パラメーターを算出し、評価した。VK-PRK(No. 2)を用いた場合の結果を図7及び表10に、VK-PRK(No. 7)を用いた場合の結果を図8及び表11に示す。なお、図に示す値は2~4回の個別の実験により求められた平均値±S.E.M.を、表に示す値は3回の個別の実験により求められた平均値±S.E.M.を表す。VK-PRK(No. 2)あるいはVK-PRK(No. 7)をCDXと同時投与したが、どちらもCDX単独投与時と比較してAUC_{0-∞}に有意な差は認められなかった。また、その他のパラメーターについても同様に有意な差は認められなかった。これらは、上記CDX(5 mg/kg)の投与量では、既に消化

管吸収に飽和が生じているためVK-PRX (No. 2) の効果が検出しにくい条件であったことが考えられる。

(表 10)

5	パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (2)
	ka (hr ⁻¹)	1.50 ± 0.24	3.21 ± 0.18
	ke (hr ⁻¹)	0.54 ± 0.06	0.49 ± 0.10
	Tmax (hr)	1.13 ± 0.11	0.70 ± 0.02
	Cmax (μg/m)	1.22 ± 0.08	1.17 ± 0.28
10	AUC _{0-∞} (μg•min/mL)	272 ± 9.27	244 ± 93.4

(表 11)

15	パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (7)
	ka (hr ⁻¹)	1.50 ± 0.24	3.33 ± 0.00
	ke (hr ⁻¹)	0.54 ± 0.06	0.63 ± 0.25
	Tmax (hr)	1.13 ± 0.11	0.64 ± 0.10
	Cmax (μg/mL)	1.22 ± 0.08	1.04 ± 0.11
	AUC _{0-∞} (μg•min/mL)	272 ± 9.27	220 ± 20.2

7-3 (VK-PRX 投与量とその効果)

20 実施例 7 記載の方法と同様に、5 mg/kg の CDX のみ (○)、10 mg/kg の CEX 及び 5 mg/kg の CDX (▲)、又は、5.7 mg/kg の VK-PRX (No. 2) 及び 5 mg/kg の CDX (●) を同時にラットに経口投与し、体内動態の各パラメーターを算出し、評価した。その結果を図 9 及び表 12 に示す。なお、図及び表に示す値は
25 2～4 回の個別の実験により求められた平均値 ± S. E. M. を表す。
10 mg/kg の VK-PRX (No. 2) を CDX と同時に投与した

場合（図 7 及び表 10）と同様に、5.7 mg/kg の VK-PRX（No. 2）を CDX と同時投与しても、CDX 単独投与時と比較して $AUC_{0-\infty}$ に有意な差は認められなかった。また、その他のパラメーターについても同様に有意な差は認められなかった。

5 （表 12）

パラメーター	CDX	CDX + CEX	CDX + VK-PRX (2)
ka (hr ⁻¹)	1.50 ± 0.24	2.41 ± 0.49	1.37 ± 0.73
ke (hr ⁻¹)	0.54 ± 0.06	0.68 ± 0.19	0.49 ± 0.13
Tmax (hr)	1.13 ± 0.11	0.79 ± 0.07	1.32 ± 0.29
10 Cmax (µg/mL)	1.22 ± 0.08	1.29 ± 0.21	1.32 ± 0.08
AUC _{0-∞} (µg·min/mL)	272 ± 9.27	247 ± 23.6	337 ± 29.9

7-4（懸濁化剤による VK-PRX 効果の影響）

次に各薬剤を懸濁化剤である 0.1% のポリアクリル酸ナトリウム（PANA）塩水に懸濁した場合（図 10）と、懸濁しない場合（図 11）との VK-PRX の効果の違いを調べるために、10 mg/kg の VK-PRK（No. 7）及び 2.5 mg/kg の CDX（●）、又は、2.5 mg/kg の CDX のみを経口投与し、各ラットにおける体内動態の各パラメーターを実施例 7 記載の方法と同様に算出し、評価した。なお、
 20 VK-PRK の経口投与は CDX 投与 30 分前に行った。PANA に懸濁した場合の結果を図 10 及び表 13 に、懸濁していない場合を図 11 及び表 14 に示す。なお、図 10、図 11 及び表 14 に示す値は 4 回の、表 13 に示す値は 3 回の個別の実験により求められた平均値 ± S. E. M. を表す。これらの結果から、VK-PRK（No. 7）を懸濁化剤
 25 に溶解させ CDX と同時投与しても、CDX 単独投与時と比較して $AUC_{0-\infty}$ に有意な差が認められず、その他のパラメーターについても同様

に有意な差が認められなかった。一方、PANAに懸濁させずに同じ条件でVK-PRKを投与したとき $AUC_{0-\infty}$ は有意に減少することがわかった。さらに、VK-PRKの同時投与によって k_a は2.42から1.75 hr⁻¹に、 C_{max} は0.8から0.64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ にそれぞれ有意に減少し、 T_{max} は0.95から1.18 hrに有意に延長していた。しかし、消失速度定数(k_e)については有意な差は認められなかった。

(表 1 3)

10	パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (7)
	k_a (hr ⁻¹)	2.12 \pm 0.45	1.88 \pm 0.03
	k_e (hr ⁻¹)	0.37 \pm 0.02	0.33 \pm 0.02
	T_{max} (hr)	1.04 \pm 0.12	1.13 \pm 0.04
	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.76 \pm 0.04	0.69 \pm 0.02
	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	186 \pm 9.15	188 \pm 7.42

15 (表 1 4)

20	パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (7)
	k_a (hr ⁻¹)	2.42 \pm 0.08	1.75 \pm 0.19
	k_e (hr ⁻¹)	0.33 \pm 0.02	0.34 \pm 0.03
	T_{max} (hr)	0.95 \pm 0.03	1.18 \pm 0.05
	C_{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.80 \pm 0.03	0.64 \pm 0.05
	$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{mL}$)	198 \pm 4.82	175 \pm 6.26

7-5 (VK-PRXの前投与の有効性)

また、VK-PRXの前投与の有効性についても調べてみた。2.5 mg/kgのCDXと10 mg/kg VK-PRX (No. 7) とを同時に経口投与した場合(●)、又は、2.5 mg/kgのCDXのみを経口投与した場合(○)の体内動態の各パラメーターを、実施例7記載

の方法と同様に算出し、評価した。その結果を図 1 2 及び表 1 5 に示す。
 なお、図に示す値は 3 回の、表に示す値は 4 回の個別の実験により求め
 られた平均値 \pm S. E. M. を表す。その結果、CDX と同時に VK-
 PRX (No. 7) を投与したものは、CDX 単独投与時のものと比較
 5 して $AUC_{0-\infty}$ に有意な差は認められなかった。しかしながら、VK-
 PRX (No. 7) を前投与し、30 分後に CDX を投与した場合 (図
 1 1 及び表 1 4) では、 $AUC_{0-\infty}$ に有意な減少が認められ、また、前
 投与の有無に関わらず k_a の有意な減少が認められた。

(表 1 5)

10	パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (7)
	k_a (hr ⁻¹)	2.42 \pm 0.08	1.29 \pm 0.28
	k_e (hr ⁻¹)	0.33 \pm 0.02	0.57 \pm 0.13
	Tmax (h)	0.95 \pm 0.03	1.18 \pm 0.08
	Cmax (μ g/mL)	0.80 \pm 0.03	0.78 \pm 0.08
15	$AUC_{0-\infty}$ (μ g \cdot min/mL)	198 \pm 4.82	175 \pm 9.98

実施例 8 [VK-PRX の静注後の CDX 体内動態への影響]

VK-PRX は高分子化合物であることから、消化管吸収を受けない
 ものと考えられる。しかし、経口投与した CEX が CDX の排泄を促進
 することも知られており、VK-PRX が CDX の $AUC_{0-\infty}$ を低下さ
 20 せた作用が必ずしも吸収性低下のみでは説明できない。一方、CDX は
 腎臓からの再吸収に非線形性があることが知られている (Drug Metab.
 Dispos. 21, 215-7, 1993, Drug Metab. Dispos. 22, 447-50, 1994)。
 また、その再吸収にはオリゴペプチドトランスポーターが関与している。
 そこで、2.5 mg/kg の CDX を瞬間静注し、同時に 10 mg/kg
 25 g の VK-PRX (No. 7) [生理食塩水に溶解した VK-PRK]
 を経口投与したラット (○) における CDX のクリアランス (CL: 腎

排泄) に対する影響を、 2.5 mg/kg の CDX を瞬間静注したラット (●) と比較するため、実施例 7 記載の方法で体内動態の各パラメーターを算出し、評価した (図 13 及び表 16)。なお、図及び表に示す値は 3 回の個別の実験により求められた平均値 \pm S. E. M. を表す。

- 5 その結果、VK-PRX の投与によって CDX の血漿中濃度推移は変化せず、前記 $\text{AUC}_{0-\infty}$ 変化は腎の排泄・再吸収過程ではなく、消化管吸収への影響であることが明らかとなった。また、既に PRX に担持されたペプチドの物理的安定性が向上することが明らかにされており (Pharm. Res. 16, 1331-1343, 1999)、得られた結果は VK-PRX が消化管吸
- 10 収を受けないかあるいは吸収されにくい化合物であることを支持するものである。以上の結果から、高分子 PEPT 1 阻害剤が非吸収性化合物として PEPT 1 を介した吸収を阻害することが明らかとなった。この結果は、PEPT 1 を介した蛋白質の吸収抑制へと繋がるものである。

(表 16)

15

パラメーター	CDX	CDX + VK-RX (7)
$\text{AUC}_{0-\infty} (\mu\text{g}\cdot\text{min/mL})$	229 ± 8.41	222 ± 5.09
Vdss (mL)	162 ± 8.99	134 ± 10.3
$\text{CL}_{\text{tot}} (\text{mL/min})$	11.0 ± 0.41	11.3 ± 0.26
$k_e (\text{hr}^{-1})$	4.10 ± 0.28	5.12 ± 0.46

20 産業上の利用可能性

本発明の組織特異的トランスポーター阻害剤は、小腸から吸収されない、又は吸収されにくいため、小腸からの栄養物の吸収を特異的に低下させることにより組織機能不全疾患又は腎不全の患者の食事療法による QOL 低下を防ぐことができる。また、かかる組織特異的トランスポ

25 ター阻害剤は、腎疾患等の組織疾患を発症させない予防医学及び腎不全を透析に至らせない保存期治療に有用である。

請 求 の 範 囲

1. 組織特異的トランスポーターが認識するリガンド構造と、膜組織を透過できない高分子分子構造とをもつことからなることを特徴とする組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
5
2. 膜組織を透過できない高分子分子構造が、超分子構造であることを特徴とする請求項1記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
3. 超分子構造が、多数の環状分子に線状分子が貫通し、該線状分子の両末端を嵩高い置換基でキャップしたロタキサン化合物であることを特徴とする請求項2記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
10
4. 環状分子が、シクロデキストリンであることを特徴とする請求項3記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
5. 線状分子が、ポリエチレングリコールであることを特徴とする請求項3又は4記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
- 15 6. 嵩高い置換基が、N-ベンジルオキシカルボニル-L-フェニルアラニンであることを特徴とする請求項3～5のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
7. 膜組織を透過できない高分子分子構造が、 α -シクロデキストリン構造であることを特徴とする請求項1記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
20
8. 組織特異的トランスポーターが認識するリガンドが、有機アニオン性物質、有機カチオン性物質、又はペプチド性物質であることを特徴とする請求項1～7のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。
- 25 9. 組織特異的トランスポーターが、小腸特異的トランスポーターであることを特徴とする請求項1～8のいずれか記載の組織特異的トランス

ポーター機能阻害剤。

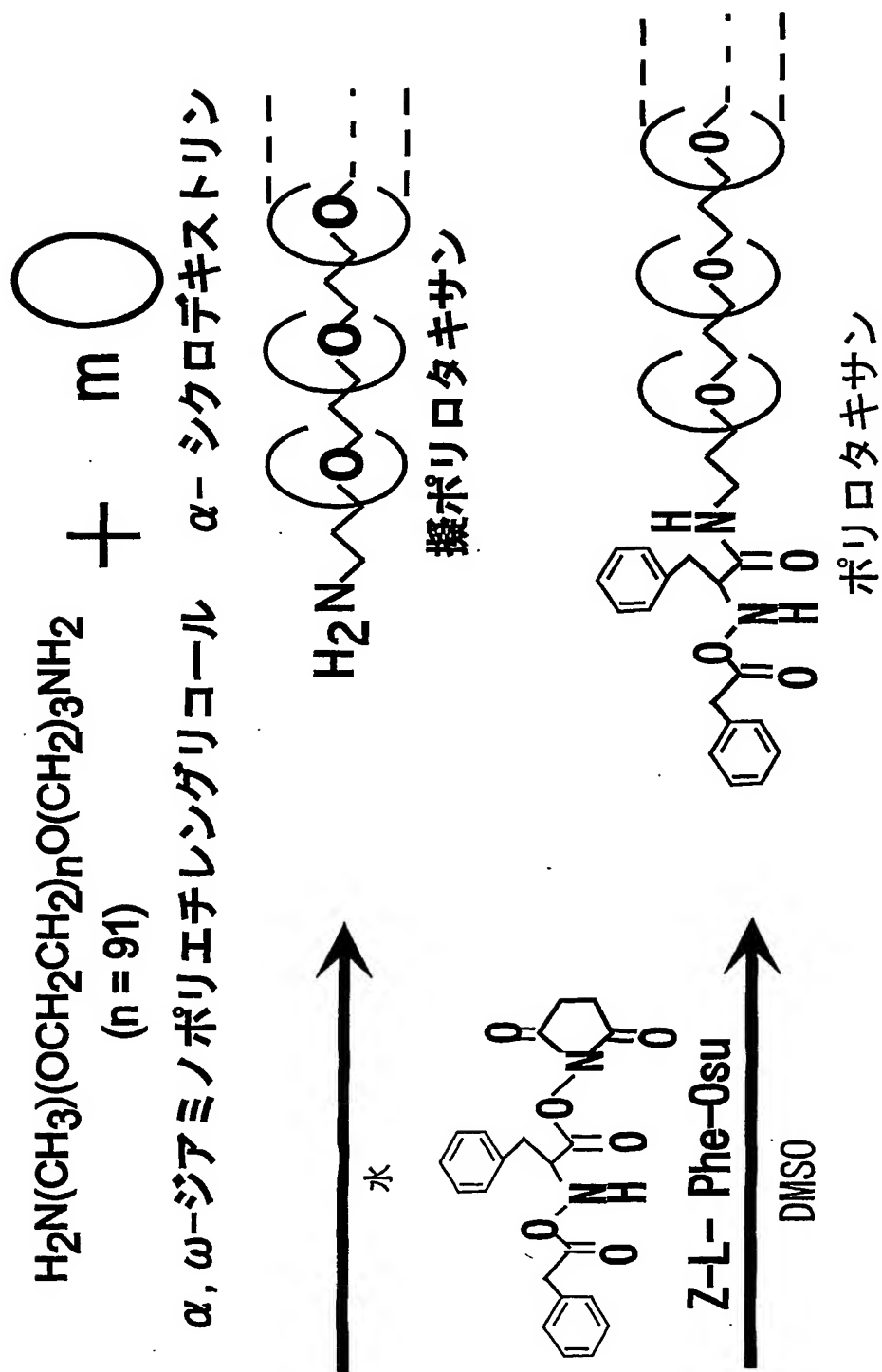
10. 小腸特異的トランスポーターが、オリゴペプチドトランスポーター1 (PEPT1)であることを特徴とする請求項9記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。

- 5 11. オリゴペプチドトランスポーター1 (PEPT1)が認識するペプチド性物質が、バリルリジン (Val-Lys)であることを特徴とする請求項10記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤。

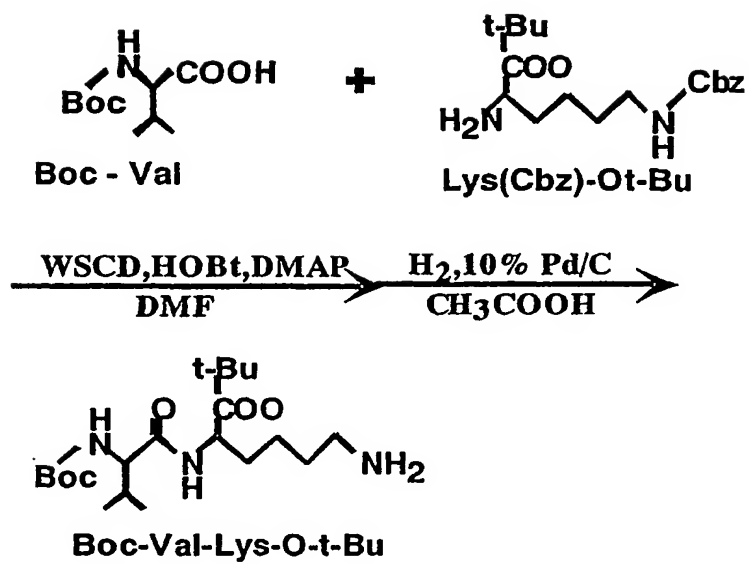
12. 請求項1～11のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤を有効成分とすることを特徴とする組織機能不全疾患治療薬。

- 10 13. 請求項1～11のいずれか記載の組織特異的トランスポーター機能阻害剤がタンパク質の吸収抑制剤であって、該抑制剤を有効成分とすることを特徴とする慢性腎不全進行抑制治療薬。

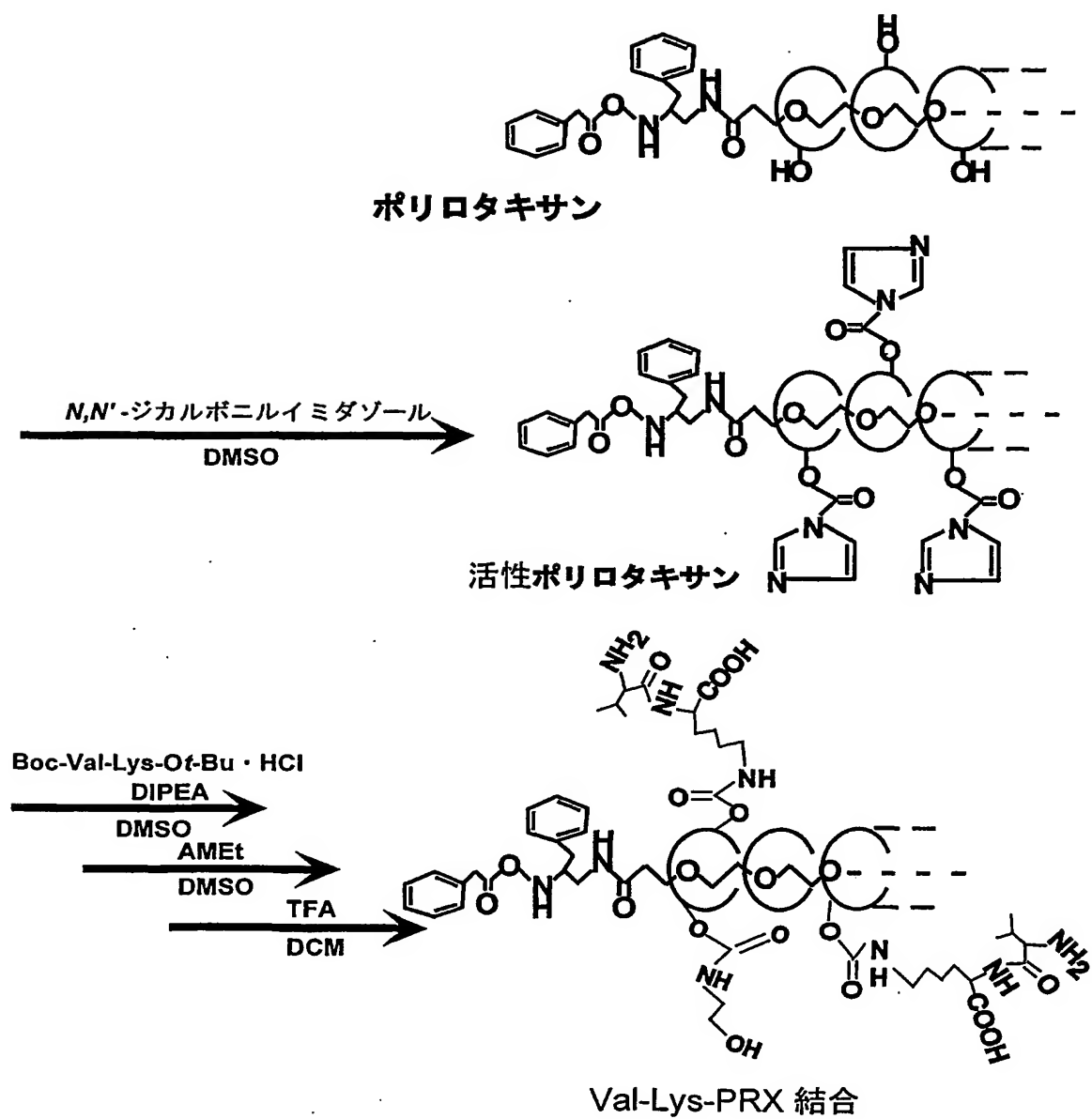
第 1 図



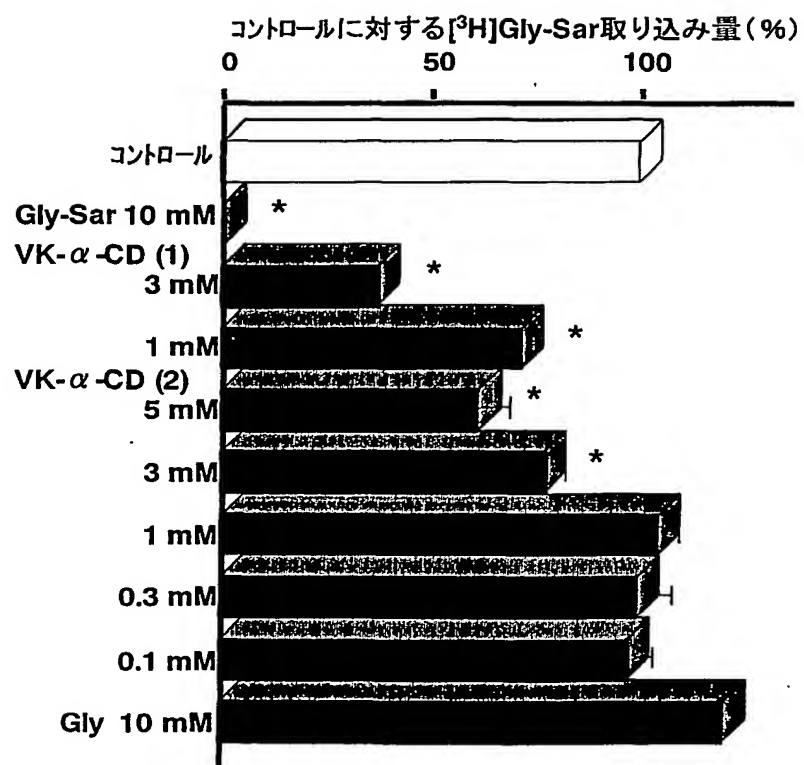
第 2 図



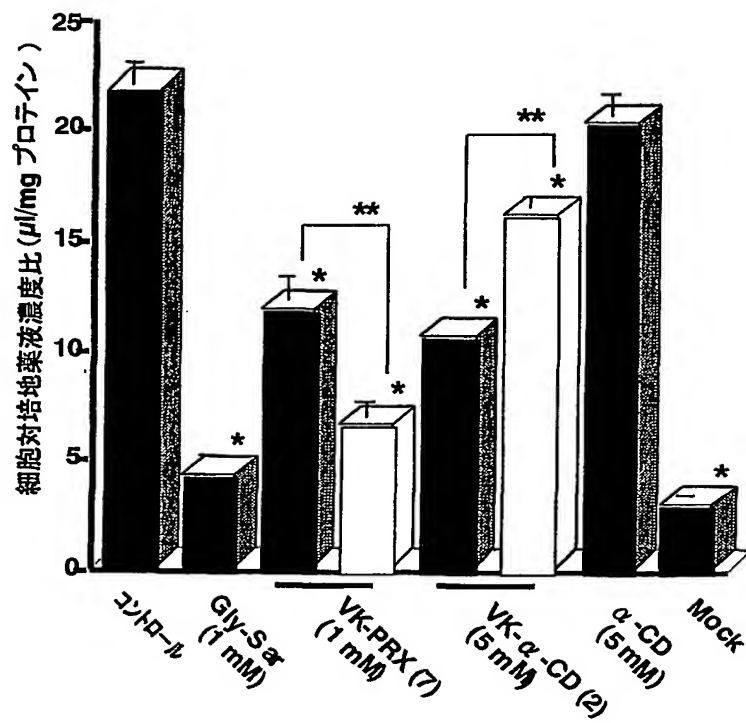
第 3 図



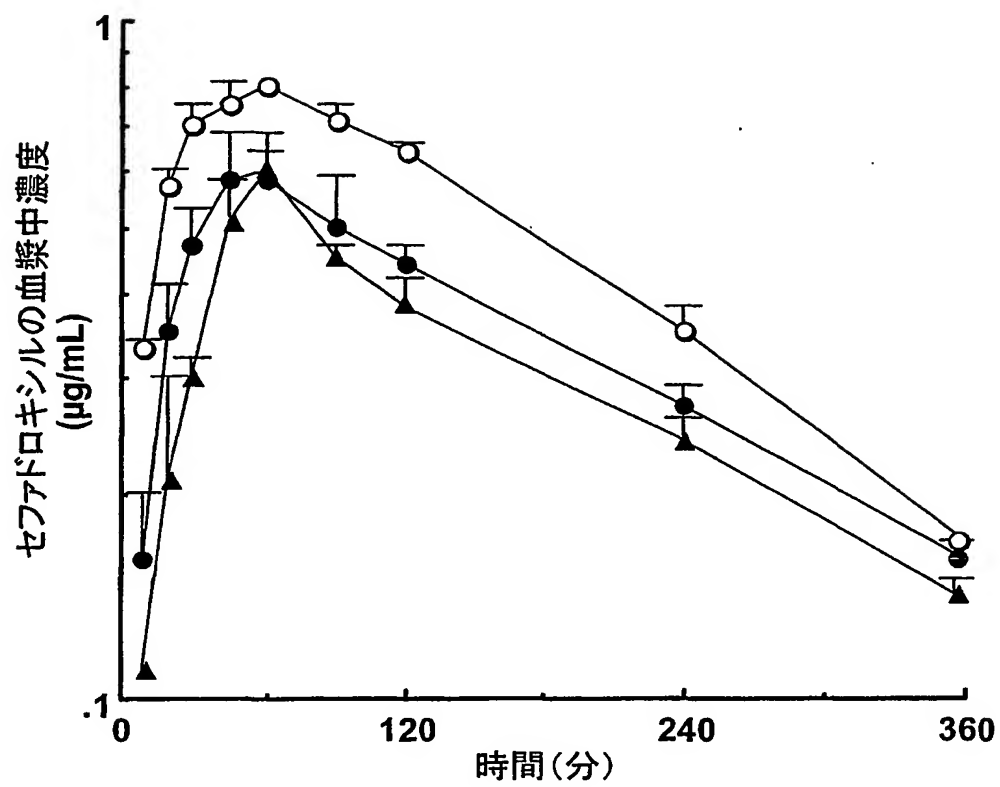
第 4 図



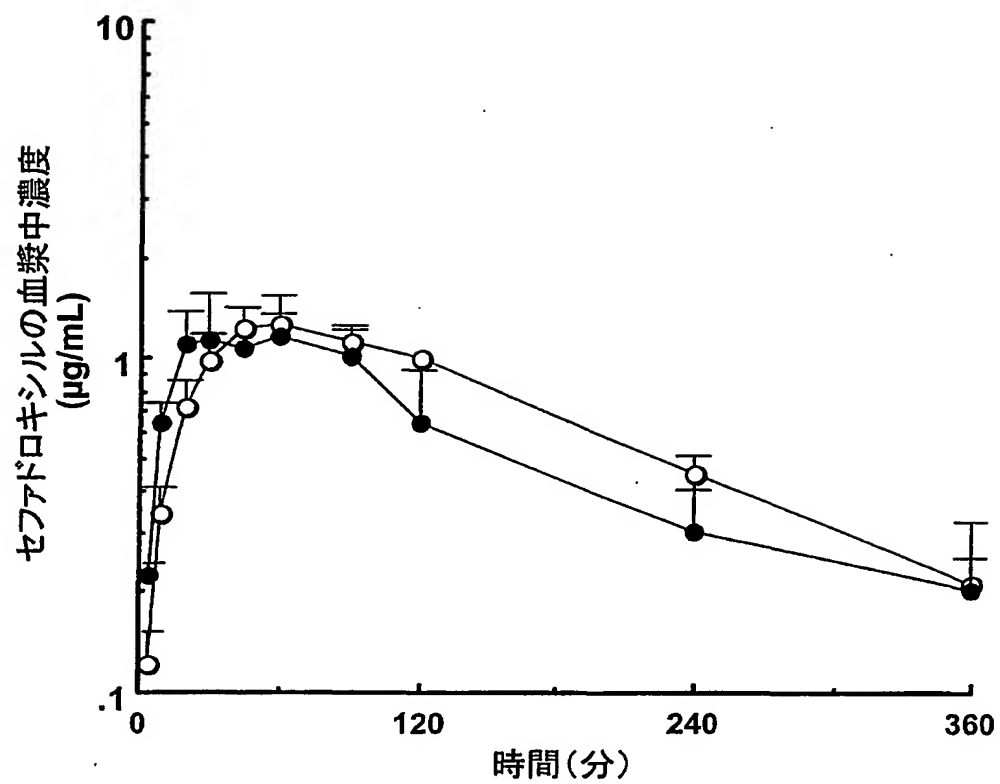
第 5 図



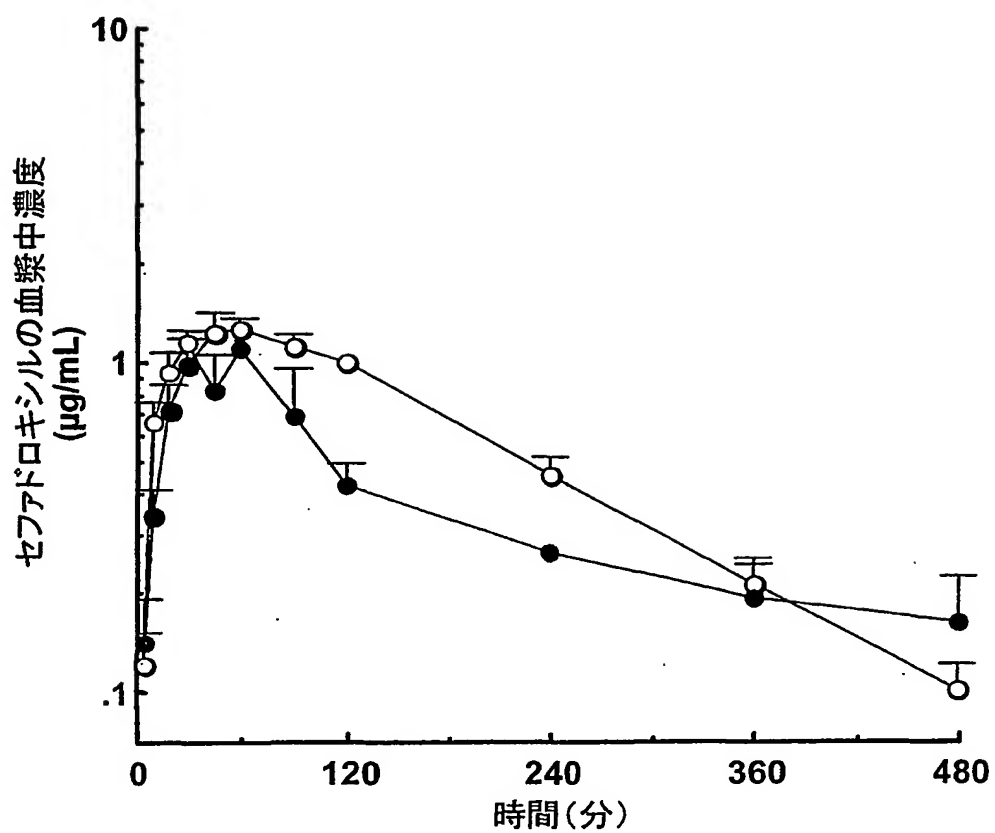
第 6 図



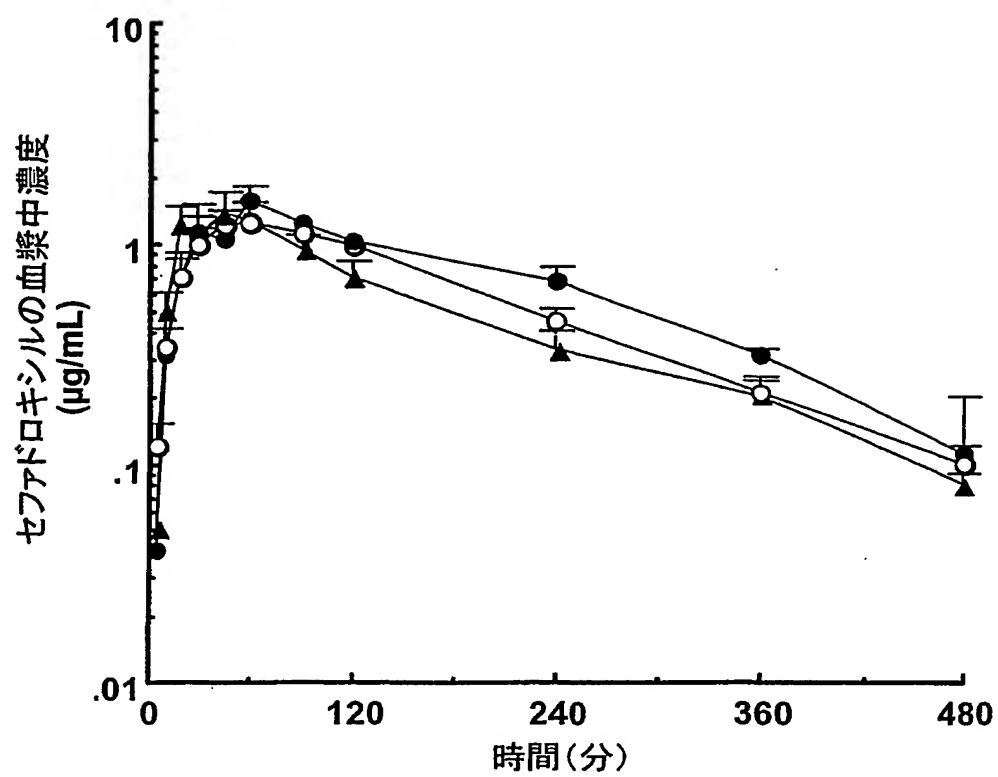
第 7 図



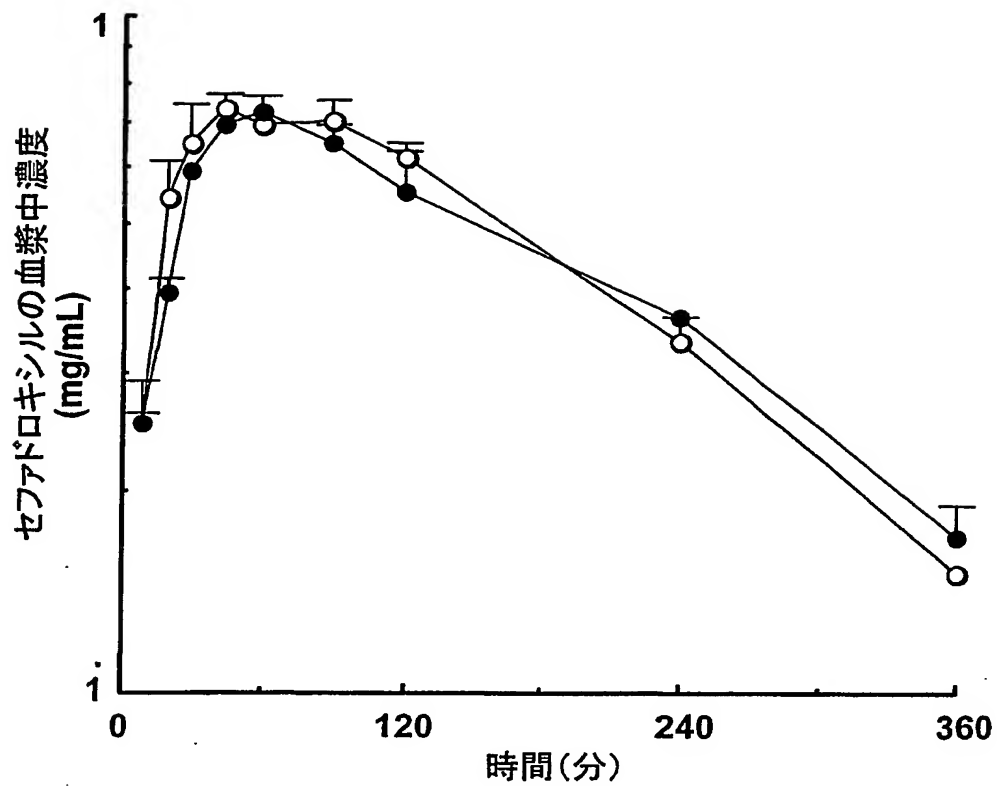
第 8 図



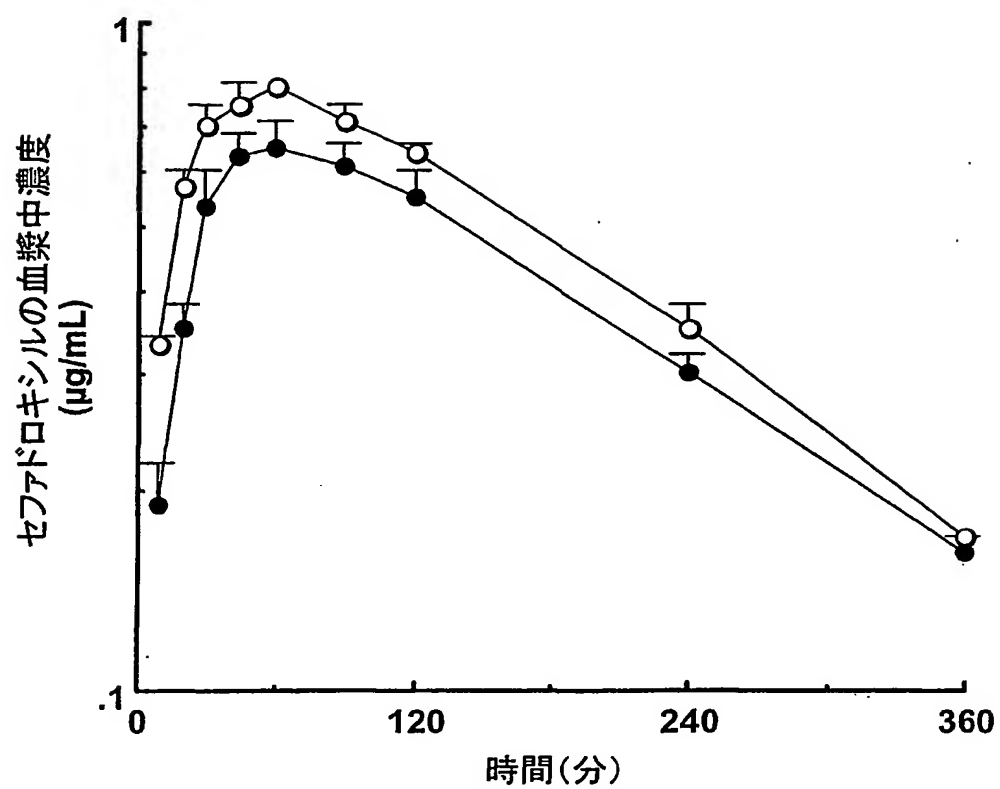
第 9 図



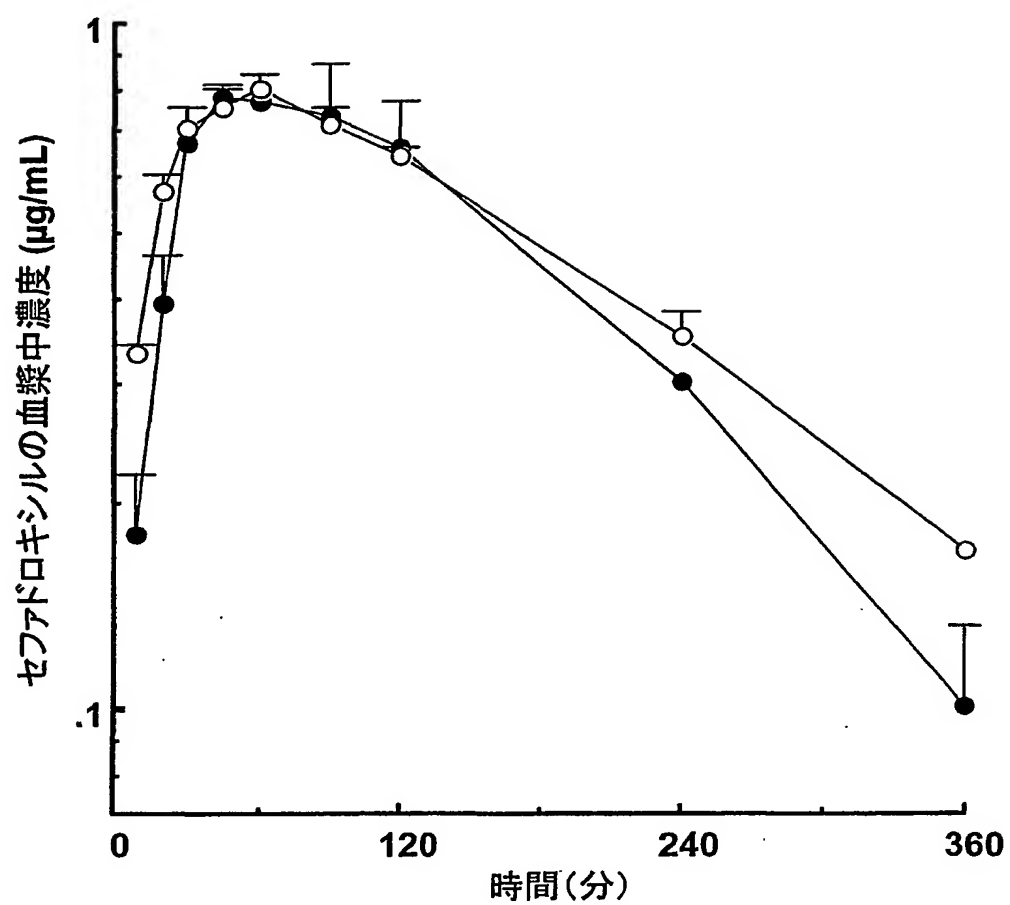
第 10 図



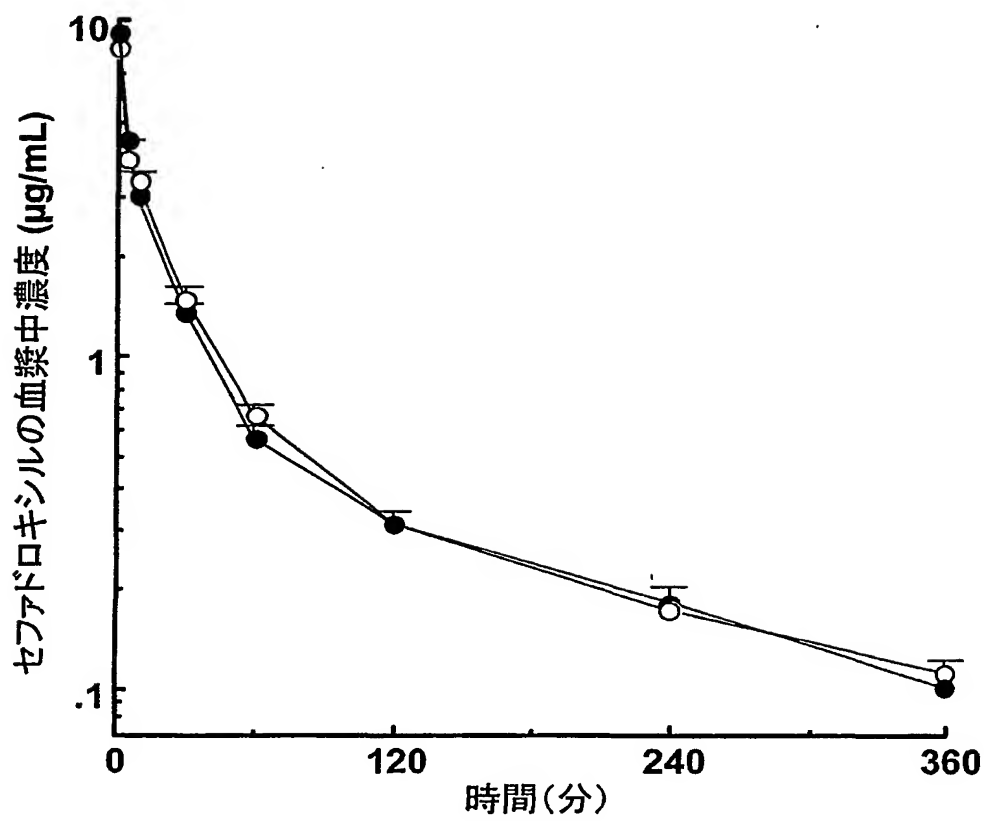
第 11 図



第 12 図



第 13 図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/06104

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K45/00, 31/724, 31/765, 47/48, A61P1/00, 13/12, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K45/00, 31/724, 31/765, 47/48, A61P1/00, 13/12, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), CAS (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO 98/07449 A (Hoechst Res & Aventis Res), 26 February, 1998 (26.02.98), & JP 2000-517356 A & EP 918544 A	1-2, 8-9 3-7, 10-13
Y A	N. NAJWA, "New Molecular Targets for Cholesterol-Lowering Therapy", Vol.293, J.Pharmacol.Exp.Ther., 2000, pages 315 to 320	1-2, 8-9 3-7, 10-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* "A"	Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier document but published on or after the international filing date	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&"	document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search
13 September, 2002 (13.09.02)Date of mailing of the international search report
08 October, 2002 (08.10.02)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO2/06104

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K45/00, 31/724, 31/765, 47/48, A61P1/00, 13/12, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ A61K45/00, 31/724, 31/765, 47/48, A61P1/00, 13/12, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

WPI (DIALOG)、BIOSIS (DIALOG)、CAS (STN)、MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	WO 98/07449 A (HOECHST RES & AVENTIS RES) 1998. 02. 26 & JP 2000-517356 A & EP 918544 A	1-2, 8-9 3-7, 10-13
Y A	N. NAJWA, 'New Molecular Targets for Cholesterol-Lowering Therapy' Vol. 293, J. Pharmacol. Exp. Ther., 2000, p. 315-320	1-2, 8-9 3-7, 10-13

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13. 09. 02

国際調査報告の発送日

08. 10. 02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

加藤 浩



4C

9050

電話番号 03-3581-1101 内線 3450